

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-188629

(43)Date of publication of application : 22.07.1997

(51)Int.Cl.

A61K 38/00

A23G 3/00

A23L 1/30

(21)Application number : 08-017190

(71)Applicant : POLA CHEM IND INC

(22)Date of filing : 06.01.1996

(72)Inventor : NISHIMURA KEIICHI
FUKUSHIMA MAKOTO
YAMAMOTO MAKOTO
FUKUDA TOSHIYUKI
ABE SHINOBU

(54) MEDICINE FOR INHIBITING ANTIBODY-PRODUCING CELL AND COMPOSITION
CONTAINING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject highly safe medicine capable of inhibiting the antibody-producing cells of a spleen, etc., and useful for treating and preventing autoimmune diseases such as atopic dermatitis and systemic lupus erythematosus by utilizing a specific natural polymer.

SOLUTION: This medicine for inhibiting antibody-producing cells contains a silk-related polymer as an active ingredient. The silk-related polymer is either of silk, a silk extract and the enzymatic degradation product of the silk. The antibody-producing cell-inhibiting medicine is high in the effect for preventing autoimmune diseases, especially atopic dermatitis appearing in dependence on seasons, because the antibody-producing cell-inhibiting medicine can be administered in good timing, before the immune reaction is flared up. One or more kinds of the antibody-producing cell-inhibiting medicines can be added to a medicine composition, a food composition, a skin preparation for external use, a cosmetic, etc. The content of the antibody-producing cell-inhibiting medicine is approximately 0.1-60wt.% in the medicine composition, approximately 0.1-80wt.% in the food composition, and approximately 0.05-30wt.% in the skin preparation for external use or the cosmetic.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-188629

(43) 公開日 平成9年(1997)7月22日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	片内整理番号	P I	技術表示箇所
A 6 1 K 38/00	ADA		A 6 1 K 37/18	ADA
A 2 3 G 3/00	1 0 1		A 2 3 G 3/00	1 0 1
A 2 3 L 1/30			A 2 3 L 1/30	A

審査請求 未請求 請求項の数 6 F D (全 5 頁)

(21) 出願番号	特願平8-17190	(71) 出願人	000113470 ポーラ化成工業株式会社 静岡県静岡市弥生町6番48号
(22) 出願日	平成8年(1996)1月6日	(72) 発明者	西村 桂一 神奈川県横浜市戸塚区柏屋町560 ポーラ 化成工業株式会社戸塚研究所内
		(72) 発明者	福島 信 神奈川県横浜市戸塚区柏屋町560 ポーラ 化成工業株式会社戸塚研究所内
		(72) 発明者	山本 信 神奈川県横浜市戸塚区柏屋町560 ポーラ 化成工業株式会社戸塚研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体産生細胞抑制剤及びそれを含有する組成物

(57) 【要約】

【構成】 絹閃速高分子からなる抗体産生細胞抑制剤。
この抗体産生細胞抑制剤を含有する、自己免疫疾患用の
食品や医薬品などの組成物。

【効果】 本発明によれば、抗体産生細胞の抗体産生を
抑制し、自己免疫疾患の治療及び予防に有益な組成物が
提供できる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 絹関連高分子からなる抗体産生細胞抑制剤。

【請求項2】 絹関連高分子が絹、絹の抽出物、絹の酵素分解物の何れかである。請求項1記載の抗体産生細胞抑制剤。

【請求項3】 請求項1又は2記載の抗体産生細胞抑制剤を含有する組成物。

【請求項4】 自己免疫疾患予防又は治療用の食品であることを特徴とする。請求項3記載の組成物。

【請求項5】 自己免疫疾患予防又は治療用の医薬組成物であることを特徴とする。請求項3記載の組成物。

【請求項6】 自己免疫疾患がアトピー性皮膚炎又は全身性エリテマトーデスである。請求項4又は5記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、自己免疫疾患の治療又は予防に有益な抗体産生細胞抑制剤に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、自己免疫疾患、例えば、アトピー性皮膚炎や全身性エリテマトーデス、気管支喘息、アレルギー性鼻炎等は住環境と食生活の急激な変化の影響を受けてか、大幅に罹患患者数を増やしている。これらの自己免疫疾患に対して、現在のところは、非ステロイド系或いはステロイド系抗炎症剤などの投与により対症的に炎症を抑えているに過ぎない。

【0003】この様な自己免疫疾患に於いては、多彩な自己抗体、自己抗原感作リンパ球の存在が知られており、自己抗体単独、抗体依存性、食細胞抗体性、キラー細胞依存性に組織障害を起こしていることが実験的にも確認されている。しかしながら、その具体的なメカニズムは解明されておらず、従って、自己免疫能を下げる試みは、しばしば免疫不全を引き起こすため、根治的な治療方法は無いのが現状であった。即ち、自己抗体を産生する細胞、脾臓などの抗体産生細胞を抑制する薬剤が求められていた。

【0004】一方、絹関連高分子について、抗体産生細胞を抑制すること、自己免疫疾患の予防又は治療に有益であることは全く知られていなかった。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、この様な状況を踏まえてなされたものであり、脾臓などの抗体産生細胞を抑制する物質を提供することを課題とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】この様な状況に鑑みて、本発明者等は抗体産生細胞を抑制する物質を求めて鋭意研究を重ねた結果、絹関連高分子にその様な作用があることを見だし、発明を完成させた。以下、本発明について詳細に説明する。

【0007】(1) 本発明の抗体産生細胞抑制剤

本発明の抗体産生細胞抑制剤は、絹関連高分子からなる。絹関連高分子とは、絹を構成している蛋白又はペプチドの一部又は全部を意味し、具体的には、絹や繭そのもの、細切したり粉砕したりして加工した絹や繭、絹や繭の溶媒抽出物、絹や繭のペプシン、トリプシン、キモトリプシン、カテプシン、パパイン、ブロメリン、フィシン等のプロテアーゼによる酵素分解物、絹や繭の酸或いは塩基による加水分解物、これらの分画精製物等が例示できる。これらの内で好ましいものは、絹或いは繭の酵素分解物と溶媒抽出物と絹或いは繭の溶媒抽出物とそれらの分画物であり、更に好ましくは絹の酵素分解物とその分画物である。これらは、次のように製造できる。

【0008】(原体)

(1-1) 絹又は繭

絹又は繭をそのまま或いは加熱滅菌して服用すれば良く、特段の加工はあっても良いし無くても良い。加工方法は、例えば細切したりミル等により粉砕したりすればよい。加工することにより経口による投与がしやすくなったり、有効成分の吸収性が向上したりすることが期待できる。

【0009】(1-2) 酵素分解物

絹又は繭を水などの溶媒中に分散し、これにペプシン、トリプシン、キモトリプシン、カテプシン、パパイン、ブロメリン、フィシン等のプロテアーゼを加え40℃付近の温度で2〜72時間分解させればよい。酵母由来のプロテアーゼ等微生物由来のプロテアーゼを用いても構わない。pHはプロテアーゼに適当なpHを用いればよい。これらの酵素群で好ましいものは入手がたやすいペプシンである。酵素分解後加熱等してプロテアーゼを不活性化し溶媒を溜去などして用いればよい。

【0010】(1-3) 加水分解物

加水分解物は原体を水などに分散させ、酸或いは塩基等の触媒を加えて、沸点付近の温度で、1〜24時間加熱攪拌し、濃縮すれば得られる。触媒としては、酸については、例えば、塩酸、硫酸、硝酸などが挙げられ、塩基としては、苛性ソーダ、苛性カリ等が例示でき、酸としては塩酸、硫酸、硝酸等が例示できる。これらの内好ましいものは中和などの後処理が簡便な塩酸である。

【0011】(1-4) 溶媒抽出物

溶媒抽出物は上記原体、酵素分解物、加水分解物に溶媒を加え、沸点付近の温度であれば数時間、室温であれば数日浸漬し、溶媒などを溜去すればよい。溶媒としては極性溶媒が好ましく、例えば、水、エタノールやメタノール等のアルコール類、アセトンやメチルエチルケトン等のケトン類、ジエチルエーテルやテトラヒドロフラン等のエーテル類、クロロホルムや四塩化炭素等のハロゲン化炭化水素類、アセトニトリル等のニトリル類が挙げられる。これらは一程のみを用いても良いし二種以上を混合して用いても良い。この様な溶媒で特に好ましいも

のは、安全性と抽出効率に優れる水とアルコールの混液である。

【0012】(1-5)分画物

分画物としては、上記原体、酵素分解物、加水分解物、溶媒抽出物をジエチルエーテル-水、クロロホルム-水、ヘキサン-含水アルコール、水-ブタノール等の二相溶剤系で液液抽出したもの、シリカゲル、ODS、イオン交換樹脂等の担体を用いたカラムクロマトグラフィー、ゲル濾過等による分画物、透析膜による分画物等が例示できる。これらの内好ましいものはイオン交換樹脂カラムクロマトグラフィーとゲル濾過である。

【0013】(2)本発明の抗体産生細胞抑制剤

本発明の抗体産生細胞抑制剤は、上記閉鎖高分子からなる。本発明で言う抗体産生細胞抑制剤とは抗体産生細胞の抗体産生活動を抑制し抗体産生量を減少させる作用を有する。上記閉鎖高分子は後記実施例に示す様に脾臓等の抗体産生細胞を抑制し抗体の産生量を減少させる作用に優れるので、自己免疫疾患、取り分け、アトピー性皮膚炎の治療と予防に優れる。特に、季節に依存して発症するアトピー性皮膚炎に対しては、免疫反応がフレアアップする以前に抗体産生細胞抑制剤をタイミング良く投与することが可能なので、高い予防効果が見期待できる。

【0014】(3)本発明の組成物

本発明の組成物は上記抗体産生細胞抑制剤を一種又は二種以上含有することを特徴とする。本発明の組成物の種類としては、例えば、自己免疫疾患の治療又は予防用の医薬組成物、自己免疫疾患の治療又は予防用の食品組成物、アトピー性皮膚炎や全身性エリテマトーデス等の皮膚に関する自己免疫疾患用の皮膚外用剤や化粧料などが例示できる。これらの組成物は本発明の抗体産生細胞抑制剤以外にこれらの組成物で通常で使われている任意成分を含有することが出来る。この様な任意成分としては、医薬組成物に於いては、賦形剤、結合剤、被覆剤、滑沢剤、糖衣剤、崩壊剤、増量剤、矯味矯臭剤、乳化・可溶化・分散剤、安定剤、pH調整剤、等張剤等が挙げられ、食品としては、着色料、増粘剤、矯味矯臭剤、安定剤、乳化剤、保存料、酸化安定剤などが挙げられ、皮膚外用剤や化粧料に於いては、ワセリンやマイクロクリスタリンワックス等のような炭化水素類、ホホバ油やゲイロウ等のエステル類、牛脂、オリーブ油等のトリグリセライド類、セタノール、オレイルアルコール等の高級アルコール類、ステアリン酸、オレイン酸等の脂肪酸、グリセリンや1,3-ブタンジオール等の多価アルコール類、非イオン界面活性剤、アニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤、エタノール、カーボ*

抗体産生細胞抑制剤1

ヒドロキシプロピルセルロース

乳糖

馬鈴薯デンプン

* ポール等の増粘剤、防腐剤、紫外線吸収剤、抗酸化剤、色素、粉体類等が挙げられる。更に、自己免疫疾患の治療や予防に好ましい成分、例えば、シソ等のハーブ成分、デキサメタゾン等のステロイドホルモン、インドメタシン等の抗炎症剤を含有させることも可能である。これら本発明の組成物は通常の方法によって製造できる。これら組成物における好ましい本発明の抗体産生細胞抑制剤の含有量は、医薬組成物では、0.1~60重量%であり、より好ましくは1~40重量%であり、更に好ましくは5~30重量%である。又、食品組成物に於いては、0.1~80重量%が好ましく、1~70重量%がより好ましく、5~50重量%が更に好ましい。更に皮膚外用剤や化粧料では0.05~30重量%が好ましく、0.1~20重量%がより好ましく、0.5~10重量%が更に好ましい。本発明の組成物の適用量は、成人一人一日当たり、医薬組成物が1~100gを経口、経直腸、注射で1回~数回投与すれば良く、食品組成物が1~500gを1回~数回摂取すれば良く、皮膚外用剤又は化粧料は適量量を1回~数回塗布すればよい。本発明の抗体産生細胞抑制剤は後記実施例に示す如く安全性に優れるので、この様な大量の投与が可能である。

【0015】

【発明の実施の形態】以下に例を挙げて発明の実施の形態について詳細に説明するが、本発明がこれら例のみに限定をされないことは言うまでもない。

【0016】例1(製造例)

絹100gを細切し、39℃の温湯500mlに分散し、これにペプシン1gを加え39℃で72時間攪拌し、100℃で1時間処理しペプシンを不活性化させた。これを凍結乾燥し抗体産生細胞抑制剤1を95g得た。

【0017】例2(製造例)

抗体産生細胞抑制剤1を10gとり、これに100mlの50%エタノール水溶液を加え2時間加熱還流し、濾過し、減圧濃縮して抗体産生細胞抑制剤2を1.3g得た。

【0018】例3(製造例)

蛋の清200gに50%エタノール水溶液1lを加え2時間加熱還流し、濾過、減圧濃縮し、抗体産生細胞抑制剤3を2.9g得た。

【0019】例4(配合例：医薬組成物)

下記の処方準じて顆粒剤を作成した。即ち、処方成分をグラッド造粒装置に秤込み、20重量部の50%エタノール水溶液を噴霧しながら造粒した。これを40℃で48時間送風乾燥し、篩過して顆粒を得た。

30重量部

10重量部

40重量部

20重量部

【0020】例5（配合例：医薬組成物）

下記の処方に準じて顆粒剤を作成した。即ち、処方成分をグラッド造粒装置に秤込み、20重量部の50%エタ*

*ノール水溶液を噴霧しながら造粒した。これを40℃で48時間送風乾燥し、篩過して顆粒を得た。

抗体産生細胞抑制剤2	30重量部
ヒドロキシプロピルメチルセルロース	10重量部
乳糖	40重量部
馬鈴薯デンプン	20重量部

【0021】例6（配合例：医薬組成物）

下記の処方に準じて顆粒剤を作成した。即ち、処方成分をグラッド造粒装置に秤込み、20重量部の50%エタ※10

*ノール水溶液を噴霧しながら造粒した。これを40℃で48時間送風乾燥し、篩過して顆粒を得た。

抗体産生細胞抑制剤3	30重量部
ヒドロキシプロピルメチルセルロース	10重量部
乳糖	40重量部
馬鈴薯デンプン	20重量部

【0022】例7（配合例：食品組成物）

下記の処方に準じて、キャンディーを作成した。即ち、★

★処方成分を120℃で加熱混合し、型へ流し込み成型してキャンディーとした。

抗体産生細胞抑制剤1	10重量部
水飴	30重量部
ソルビット	60重量部

【0023】例8（配合例：食品組成物）

下記の処方に準じて、キャンディーを作成した。即ち、☆

20☆処方成分を120℃で加熱混合し、型へ流し込み成型してキャンディーとした。

抗体産生細胞抑制剤2	10重量部
水飴	30重量部
ソルビット	60重量部

【0024】例9（配合例：食品組成物）

下記の処方に準じて、キャンディーを作成した。即ち、◆

◆処方成分を120℃で加熱混合し、型へ流し込み成型してキャンディーとした。

抗体産生細胞抑制剤3	10重量部
水飴	30重量部
ソルビット	60重量部

【0025】例10（配合例：皮膚外用剤）

下記の処方に準じて皮膚外用剤を作成した。即ち、処方*

30*成分をニーダーで加熱混練りし冷却し、軟膏を得た。

抗体産生細胞抑制剤1	5重量部
ワセリン	95重量部

【0026】例11（配合例：皮膚外用剤）

下記の処方に準じて皮膚外用剤を作成した。即ち、処方※

*成分をニーダーで加熱混練りし冷却し、軟膏を得た。

抗体産生細胞抑制剤2	5重量部
ワセリン	95重量部

【0027】例12（配合例：皮膚外用剤）

下記の処方に準じて皮膚外用剤を作成した。即ち、処方★

★成分をニーダーで加熱混練りし冷却し、軟膏を得た。

抗体産生細胞抑制剤3	5重量部
ワセリン	95重量部

【0028】

【実施例】

実施例1

急性毒性

ICRマウス1群5匹を用いて本発明の抗体産生細胞抑制剤1～3の急性毒性を調べた。即ち、本発明の抗体産生細胞抑制剤1～3をそれぞれ生理食塩水に分散又は可溶化させ、2g/Kgの量を経口投与した。投与後14日に動物の生死を確認したところが全ての動物が生存し

ていた。このことより本発明の抗体産生細胞抑制剤のLD50値は2g/Kgより大きく、安全性が高いことが判る。

【0029】実施例2

抗体産生細胞抑制作用

抗体産生細胞抑制作用はジェルン（Jern）等が開発した溶血ブランク法（Science, 140, 405, 1963）に従って脾細胞の抗体産生細胞をブランク形成によって識別し計数することによって行った。即

ち、d d y雄性マウス1群6匹に尾静脈より、SRBC（羊赤血球）を磷酸緩衝生理食塩水に 4×10^8 個/mlの濃度に分散させ、0.25 ml投与し感作させた。SRBC投与日より連日4日、500、1000、2000 mg/Kgのドーズでサンプルを生理食塩水に分散或いは可溶化させて投与した。最終の投与終了後24時間に脾臓を取り出し、ジェルンの方法によって抗体産生細胞を計数した。即ち、脾臓細胞に分け、寒天培地上で*

* SRBCとともにインキュベートし、更にモルモット血清と共にインキュベートしブラーク形成細胞を計数した。結果を表1にしめす。これより、本発明の抗体産生細胞抑制剤は抗体産生細胞抑制作用に優れることが判る。

【0030】

【表1】

サンプル（投与量）	抗体産生細胞抑制率（%）
抗体産生細胞抑制剤1（2000）	51
抗体産生細胞抑制剤1（1000）	37
抗体産生細胞抑制剤2（1000）	46
抗体産生細胞抑制剤3（500）	42

【0031】

※生を抑制し、自己免疫疾患の治療及び予防に有益な組成

【発明の効果】本発明によれば、抗体産生細胞の抗体産生抑制剤が提供できる。

フロントページの続き

(72)発明者 福田 寿之
神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ
化成工業株式会社戸塚研究所内

(72)発明者 阿部 しのぶ
神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ
化成工業株式会社戸塚研究所内

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載
 【部門区分】第 3 部門第 2 区分
 【発行日】平成 13 年 8 月 28 日 (2001. 8. 28)

【公開番号】特開平 9-188629
 【公開日】平成 9 年 7 月 22 日 (1997. 7. 22)
 【年号数】公開特許公報 9-1887
 【出願番号】特開平 8-17190
 【国際特許分類第 7 版】

A61K 38/00 ADA

A23G 3/00 101

A23L 1/30

【F I】

A61K 37/18 ADA

A23G 3/00 101

A23L 1/30 A

【手続補正書】
 【提出日】平成 12 年 10 月 30 日 (2000. 10. 30)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項 2

【補正方法】変更

【補正内容】

【請求項 2】絹関連高分子が絹もしくは繭、絹もしくは繭の溶媒抽出物、絹もしくは繭の酵素分解物、絹もしくは繭の加水分解物、又はそれらの分画物の何れかである。請求項 1 記載の抗体産生細胞抑制剤。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0007

【補正方法】変更

【補正内容】

【0007】(1) 本発明の抗体産生細胞抑制剤

本発明の抗体産生細胞抑制剤は、絹関連高分子からなる。絹関連高分子とは、絹を構成している蛋白又はペプチドの一部又は全部を意味し、具体的には、絹や繭そのもの、細切したり粉砕したりして加工した絹や繭、絹や繭の溶媒抽出物、絹や繭のペプシン、トリプシン、キモトリプシン、カテプシン、ババイン、プロメルリン、フィシン等のプロテアーゼによる酵素分解物、絹や繭の酸或いは塩基による加水分解物、これらの分画物等が例示できる。これらの内で好ましいものは、絹或いは繭の酵素分解物と絹或いは繭の溶媒抽出物とそれらの分画物であり、更に好ましくは絹の酵素分解物とその分画物である。これらは、次のように製造できる。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0014

【補正方法】変更

【補正内容】

【0014】(3) 本発明の組成物

本発明の組成物は上記抗体産生細胞抑制剤を一種又は二種以上含有することを特徴とする。本発明の組成物の種類としては、例えば、自己免疫疾患の治療又は予防用の医薬組成物、自己免疫疾患の治療又は予防用の食品組成物、アトピー性皮膚炎や全身性エリテマトーデス等の皮膚に関する自己免疫疾患用の皮膚外用剤や化粧品などが例示できる。これらの組成物は本発明の抗体産生細胞抑制剤以外にこれらの組成物で通常で使われている任意成分を含有することが出来る。このような任意成分としては、医薬組成物に於いては、賦形剤、結合剤、緩衝剤、滑沢剤、糖衣剤、崩壊剤、増量剤、矯味矯臭剤、乳化・可溶化・分散剤、安定剤、pH 調整剤、等張剤等が挙げられ、食品としては、着色料、増粘剤、矯味矯臭剤、安定剤、乳化剤、保存料、酸化安定剤などが挙げられ、皮膚外用剤や化粧品に於いては、ワセリンやマイクロクリスタリンワックス等のような炭化水素類、ホホバ油やゲイロウ等のエステル類、牛脂、オリーブ油等のトリグリセライド類、セタノール、オレイルアルコール等の高級アルコール類、ステアリン酸、オレイン酸等の脂肪酸、グリセリンや 1、3-ブタンジオール等の多価アルコール類、非イオン界面活性剤、アニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤、エタノール、カーボール等の増粘剤、防腐剤、紫外線吸収剤、抗酸化剤、色素、粉体類等が挙げられる。更に、自己免疫疾患の治療や予防に好ましい成分、例えば、シソ等のハーブ成分、デキサメタゾン等のステロイドホルモン、インドメタシン等の抗炎症剤を含有させることも可能である。これら本発明の組成物は通常の方法によって製造できる。これら組成物における好ましい本発明の抗体産生細胞抑

制剤の含有量は、医薬組成物では、0.1～60重量%であり、より好ましくは1～40重量%であり、更に好ましくは5～30重量%である。又、食品組成物に於いては、0.1～80重量%が好ましく、1～70重量%がより好ましく、5～50重量%が更に好ましい。更に皮膚外用剤や化粧料では0.05～30重量%が好ましく、0.1～20重量%がより好ましく、0.5～10重量%が更に好ましい。本発明の組成物の適用量は、成人一人一日当たり、医薬組成物が1～100gを経口、経直腸、注射で1回～数回投与すれば良く、食品組成物が1～500gを1回～数回摂取すれば良く、皮膚外用剤又は化粧料は適当量を1回～数回塗布すればよい。本発明の抗体産生細胞抑制剤は後記実施例に示す如く安全性に優れるので、この様な大量の投与が可能である。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0028

【補正方法】変更

【補正内容】

【0028】

【実施例】実施例1

急性毒性

ICRマウス1群5匹を用いて本発明の抗体産生細胞抑制剤1～3の急性毒性を調べた。即ち、本発明の抗体産生細胞抑制剤1～3をそれぞれ生理食塩水に分散又は可溶化させ、2g/Kgの量を経口投与した。投与後14日に動物の生死を確認したところ全ての動物が生存していた。このことより本発明の抗体産生細胞抑制剤のLD50値は2g/Kgより大きく、安全性が高いことが判る。